

Appl. No. 09/937,243
Amdt. dated November 14, 2003
Reply to Office Action of August 22, 2003

REMARKS

Claims 58-83 and 85-117 are now pending in the application. Claims 70-78, 85, 86, and 98-104 are withdrawn as a result of a previous issued restriction requirement. Applicant thanks the Examiner for his helpful remarks presented during a telephonic interview on November 4, 2003.

Unity of Invention

Applicant acknowledges the P.T.O.'s explanation for rejoinder of the claims of Groups I and III.

Claim Objections

In the present Office Action, the P.T.O. objected to Claim 82 as being dependent on a rejected base claim, but otherwise found the claim to be in condition for allowance. Applicant discusses the rejected base claim below.

Claims 67 and 114 were objected because of their claim dependencies. This problem has been rectified by amending the claims in accordance with the P.T.O.'s recommendations.

Applicant, therefore, requests reconsideration and withdrawal of these objections.

Rejections Under 35 U.S.C. § 112, First Paragraph regarding written description

Applicants request reconsideration of the rejection of Claims 58-69, 79-81 and 105-116 under 35 U.S.C. § 112, second paragraph regarding written description because of the amendments to the claims. The rejection is based on the P.T.O.'s contention that the claims encompass species of microbes that are not naturally occurring and/or were not known at the time of the invention, i.e., mutant and variant microbes. In order to hasten favorable conclusion of prosecution of this application, Applicant has amended the claims to recite "naturally

Appl. No. 09/937,243
Amdt. dated November 14, 2003
Reply to Office Action of August 22, 2003

occurring" microbes. Applicant, therefore, requests withdrawal of the rejection of Claims 58-69, 79-81 and 105-116 under 35 U.S.C. § 112, second paragraph regarding written description.

Rejections Under 35 U.S.C. § 112, First Paragraph regarding enablement

Applicant requests reconsideration of the rejection of Claims 58-69, 79-81 and 105-116 under 35 U.S.C. § 112, second paragraph regarding enablement because of the amendments to the claims and for the reasons discussed below.

The rejection is based in part on the P.T.O.'s contention that the claims encompass nucleotide sequences of microbes that are not naturally occurring and/or were not known at the time of the invention, i.e., mutant and variant microbes. In order to hasten favorable conclusion of prosecution of this application, Applicant has amended the claims to recite "naturally occurring" microbes.

The rejection for enablement also rests on the P.T.O.'s contention that the claims are so broad as to encompass any conditions that would result in acid catalyzed dehydration of myo-2-inosose to yield 1,2,3,4-tetrahydroxybenzene, but that acid catalyzed dehydration conditions as presented in the specification for converting myo-2-inosose to 1,2,3,4-tetrahydroxybenzene are critical for conversion. The P.T.O. cites for support the specification's recitation of a reference, Posternak, T., *The Cyclitols*, 1965, (Posternak I). It is applicant's position that no experiments comparable to those in the specification are in fact disclosed in the cited reference. In Posternak I, it is stated that acyl derivatives of scylloinosose are prepared in the presence of acid catalysts, and that basic catalysts give rise to an aromatization with formation of derivatives of 1,2,3,5-tetrahydroxybenzene. These statements are, in turn, drawn from a primary research article, "Recherches dans la série des cyclites V. Sur un inosose préparé par voie biochimique¹) par

Appl. No. 09/937,243
Amdt. dated November 14, 2003
Reply to Office Action of August 22, 2003

Théodore Posternak." ("Posternak II"). A certified translation of the French language the article (copy enclosed) reveals no indication that the author investigated conversion of myo-2-inosose to 1,2,3,4-tetrahydroxybenzene using acid catalysis. In response to the Examiner's request during the telephonic interview, references to acid catalysis and an inosose have been identified in the translation to be at least as follows:

On page 2, second paragraph the author reports that acetic anhydride in the presence of acid catalysts (sulfuric acid, zinc chloride) reacts with inosose to yield a penta-acetate.

On page 4, first paragraph 1, the author discusses hydrogenation using a platinum oxide catalyst in dilute sulfuric acid.

On page 4, second paragraph, the author discusses acetylated derivatives of "Kluyver's inosose" (discussed on page 1) subjected to catalytic hydrogenation by platinum oxide, in an environment of glacial acetic acid and sulfuric acid.

On page 6, third paragraph, the author discusses his methods for generating inosose pentaacetates from inosose. The methods involve treating an inosose with 95 volumes of acetic anhydride and 5 volumes of concentrated sulfuric acid.

None of these experiments recite an attempted acid catalyzed dehydration of an inosose. In contrast, the present specification recites at least on page 10, lines 10-14, that myo-2-inosose can be converted to 1,2,3,4-tetrahydroxybenzene with sulfuric acid treatment in an argon atmosphere. Because acid catalyzed dehydration reaction was neither contemplated nor investigated in Posternak I or Posternak II, applicant contends that there is no reason to conclude that the reaction described in the specification would not enable a skilled artisan to produce

Appl. No. 09/937,243
Am dt. dated November 14, 2003
Reply to Office Action of August 22, 2003

1,2,3,4-tetrahydroxybenzene using the scope of recited microbes and conditions for acid catalyzed dehydration encompassed by the claims.

Applicant, therefore, requests withdrawal of the rejection of Claims 58-69, 79-81 and 105-116 under 35 U.S.C. § 112, second paragraph regarding enablement.

Applicant acknowledges the withdrawal of the enablement rejection regarding the presence of a phosphatase in microbes.

Applicant acknowledges withdrawal of the enablement rejection of claims 61, 63, 65, 84, 90, 94, 108, 110 and 112 in view of the submission of a statement of public availability of a deposited microorganism.

CONCLUSION

It is believed that this amendment places the claims in a condition for allowance and such favorable action is respectfully requested. If, however, any of the claims are deemed by the P.T.O. not to be in a condition for allowance, Applicants request an interview with the P.T.O. so that any remaining issues can be resolved. Should any questions arise, the P.T.O. is requested to contact the undersigned attorney.

Respectfully submitted,

Dated: Nov 14, 2003

By: Saul L. Zackson

Saul L. Zackson
Reg. No. 52,391
Harness, Dickey & Pierce
7700 Bonhomme, Suite 400
St. Louis, Missouri 63105
(314) 726-7500

luolsulfonat.

·m, phosgenfreiem Chloro-
lin und 7,7 g frisch gerei-
t während 70 Stunden
unden auf 50° C und ar-

vakuum abgedampft und
nit viel absolutem Äther
r ausgezogen. Das un-
wenig Chloroform gelöst,
al mit Wasser gewaschen,
Chloroform im Vakuum
rnesyl-pyridinium-toluol-

33 N 3.08%
23 „ 2.85%

fonat werden in 175 cm³
h bereitetem p-Nitroso-
Natronlauge (wässrige
hen bei Raumtemperatur
Zeit im Eisraum stehen
läther in mehreren Por-
sich befindende Nitron
mit insgesamt 500 cm³
entstandenen Aldehyds
nochmals mit Wasser ge-
des Petroläthers bei nor-
rnt. Es hinterbleibt ein
bei 110° C siedet. Die
isbeute 2 g.

uolsulfonat.

tem Pyridin gelöst und
hlorid versetzt. Es ent-
man durch Eiskühlung
erden. Nach dreitägigem
das Pyridin im Vakuum
Äther und nachher mit
mit wenigen Krystallen
Chloroform gelöst und
t Wasser ausgeschüttelt.
und Abdestillieren des
bes Öl von 17 g Gewicht,
sulfonat vorliegt.

11. Citral.

Die vorgenannten 17 g des Pyridinium-Salzes werden in 440 cm³
absolutem Alkohol gelöst und mit 6,6 g frisch bereitetem Nitroso-
dimethylanilin und 44 cm³ 1-n. Natronlauge versetzt. Nach 24-
stündigem Stehen bei Raumtemperatur haben wir 400 cm³ Wasser
zugesetzt und die Lösung kurze Zeit in den Eisraum gestellt. Dann
wurde mit 700 cm³ Petroläther ausgezogen, das im Petroläther
gelöste Nitron mit 2-n. Salzsäure zerlegt und der Petroläther mit
Wasser, Bicarbonat und wiederum mit Wasser gewaschen. Nach dem
Trocknen über Natriumsulfat haben wir den Petroläther zuerst unter
Atmosphärendruck, den Rest im Vakuum entfernt. Es hinterblieb
Citral, welches unter 12 mm Hg bei 128° C destillierte. Ausbeute 1,3 g.
Durch erneutes Ausziehen der Reaktionslösung mit 1000 cm³ Petrol-
äther und Aufarbeiten der Petrolätherlösung konnte ein weiteres
Gramm Citral erhalten werden.

Dieses Präparat von Citral enthielt kein Ausgangsmaterial
(Geraniol), da sich durch Zerewitinoff-Bestimmung kein aktiver
Wasserstoff nachweisen liess.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

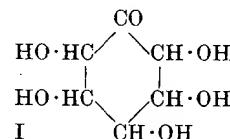
119. Recherches dans la série des cyclites V.

Sur un inosose préparé par voie biochimique¹⁾

par Théodore Posternak.

(23. VIII. 41.)

En 1936, nous avons montré qu'en traitant la méso-inosite dans
certaines conditions par l'acide nitrique concentré, on obtient un
cyclose C₆H₁₀O₆ (I) bien cristallisé auquel nous avons donné le nom
d'inosose²⁾.



Ce sucre cétonique se distingue avant tout par l'intensité de ses
propriétés réductrices: il réduit instantanément à froid la liqueur de
Fehling et la solution ammoniacale de nitrate d'argent; traité par
l'iode en milieu alcalin, il consomme environ 2 atomes d'halogène.

¹⁾ Communication préliminaire: C. r. Soc. phys. hist. nat. Genève **58**, 44 (1941).

²⁾ Th. Posternak, Helv. **19**, 1333 (1936).

Il y a peu de temps, *Kluyver* et *Boezaardt*¹⁾ ont étudié l'action d'une bactérie oxydante (*Acetobacter suboxydans* *Kluyver* et *de Leeuw*) sur la méso-inosite. Contrairement à des indications antérieures d'autres auteurs²⁾, ils constatèrent que, sous l'action du micro-organisme, la cyclite, tout comme les poly-alcools aliphatiques, donne naissance à un cétose; celui-ci se forme avec un rendement de 90 %. Ce composé fond à 200°, il réduit instantanément à froid la liqueur de *Fehling*, et *Kluyver* et *Boezaardt* le considèrent comme identique à l'inosose que nous avions obtenu autrefois par oxydation nitrique. M. le prof. *Kluyver* ayant eu la grande obligeance de mettre à notre disposition, outre un échantillon de sa substance, une souche du micro-organisme, nous avons pu préparer une certaine quantité d'inosose par voie biochimique et étudier ses réactions.

Nous avons constaté pour commencer que l'inosose de *Kluyver* ressemble beaucoup par son point de fusion et par ses propriétés réductrices à la substance que nous avions obtenue par voie purement chimique. Mais dès qu'on passe aux dérivés acylés, on remarque de fortes différences: l'inosose obtenu par oxydation nitrique donne un penta-acétate fondant à 106—108° et un penta-benzoate fondant à 144°; comme on le verra plus loin, les points de fusion des dérivés correspondants de l'inosose de *Kluyver* sont bien différents. Il est alors certain que les deux cycloses ne sont pas identiques, mais représentent des stéréo-isomères.

L'inosose préparé par voie biochimique répond à la formule C₆H₁₀O₆. Il est optiquement inactif. Il fournit une phénylhydrazone bien cristallisée. Ses dérivés penta-acylés donnent lieu à des phénomènes curieux:

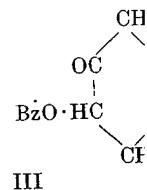
Sous l'action de l'anhydride acétique en présence de catalyseurs acides (acide sulfurique, chlorure de zinc) l'inosose fournit un penta-acétate; ce dernier, après recristallisation dans l'acide acétique ou dans l'anhydride acétique en présence des mêmes catalyseurs, fond à 211°. Si, par contre, on cristallise la substance dans l'alcool, dans l'acide acétique ou dans l'anhydride acétique en l'absence de ces catalyseurs, elle se transforme en un produit de même composition fondant à 147°. Inversément ce dernier produit régénère le penta-acétate de p. de f. 211° lorsqu'on le recristallise dans l'acide acétique ou dans l'anhydride acétique en présence d'acide sulfurique. En d'autres termes, le produit de point de fusion élevé ne se forme qu'en présence de catalyseurs acides. Abandonnées à l'état cristallisé en l'absence de dissolvant, les deux formes sont stables. D'autre part, nous n'avons observé aucune transformation lorsque l'une de ces formes est mise au contact des cristaux de l'autre: les différences entre les deux substances ne sont donc probablement pas dues à un phénomène de dimorphisme.

¹⁾ R. 58, 956 (1939).

²⁾ Dunning, Fullmer, Guymon et Underkofler, Science 87, 72 (1938).

Le penta-*k* phénomènes an par le chlorure Ici encore on oit aisément l'un d par cristallisati l'autre, qui fonc sation dans l'a

Tous ces réactions que i obtenu par ox tique en prései dine) les deux tétra-acétoxy- si l'on acétyle mêmes catalys III soumis en de la pyridine benzoïque en l'avions indiqu par l'interméc formation de dans les dériv n'est pas liée



L'inosose game de sod prévoit la th quantités à la différence L'une de ces à la méso-inc plus difficilement élevé (

¹⁾ Helv. 1

¹⁾ ont étudié l'action ydans *Kluyver* et de des indications anté- que, sous l'action du y-alcools aliphatiques, e avec un rendement instantanément à froid le considèrent comme autrefois par oxydation e obligeance de mettre substance, une souche une certaine quantité réactions.

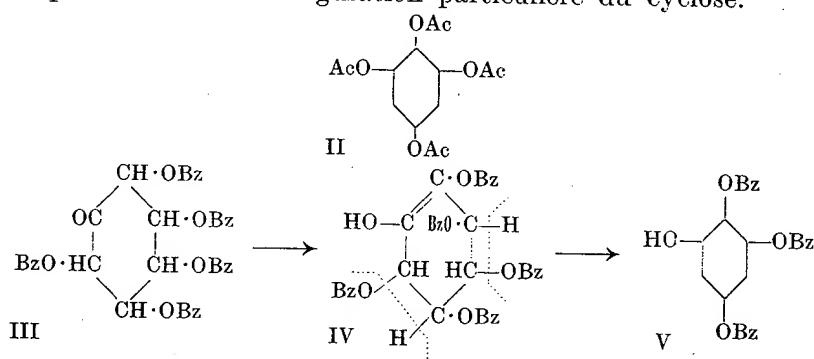
à l'inosose de *Kluyver* et par ses propriétés tenu par voie pure- lérivés acylés, on re- par oxydation nitrique et un penta-benzoate, les points de fusion er sont bien différents. sont pas identiques,

répond à la formule une phénylhydrazone tient lieu à des phéno-

rérence de catalyseurs sose fournit un penta- is l'acide acétique ou mes catalyseurs, fond ice dans l'alcool, dans en l'absence de ces de même composition uit régénère le penta- llise dans l'acide acé- ce d'acide sulfurique. ion élevé ne se forme nées à l'état cristallisé sont stables. D'autre ion lorsque l'une de l'autre: les différences ablement pas dues à

Le penta-benzoate de l'inosose de *Kluyver* donne lieu à des phénomènes analogues. Nous l'avons préparé en traitant le cyclose par le chlorure de benzoyle en présence de chlorure de zinc anhydre. Ici encore on observe l'existence de deux isomères qui se transforment aisément l'un dans l'autre. La forme de p. de f. élevé (286°) s'obtient par cristallisation dans l'acide acétique en présence d'acide sulfurique; l'autre, qui fond à 188°, se prépare le plus commodément par cristallisation dans l'anhydride acétique en l'absence d'acide sulfurique.

Tous ces dérivés acylés du nouvel inosose donnent lieu à des réactions que nous avions déjà observées lors de l'étude de l'inosose obtenu par oxydation nitrique¹⁾. Sous l'action de l'anhydride acétique en présence de catalyseurs basiques (acétate de sodium, pyridine) les deux formes du penta-acétate donnent naissance au 1,2,3,5-tétra-acétoxy-benzène II. Ce dernier composé s'obtient également si l'on acétyle le cyclose par l'anhydride acétique en présence des mêmes catalyseurs basiques. D'autre part, les deux penta-benzoates III soumis en solution acétique à l'action de l'acétate de sodium ou de la pyridine, se transforment par perte de deux molécules d'acide benzoïque en 1-oxy-2,3,5-tribenzoyl-oxy-benzène V. Comme nous l'avions indiqué autrefois, cette transformation se fait probablement par l'intermédiaire du composé énolique IV. Cette tendance à la formation de dérivés acylés du 1,2,3,5-tétra-oxy-benzène se retrouve donc dans les dérivés acylés des deux inososes et on voit ainsi qu'elle n'est pas liée à une configuration particulière du cyclose.



L'inosose de *Kluyver* se laisse réduire très facilement par l'amalgame de sodium en solution acétique. On obtient ainsi, comme le prévoit la théorie, un mélange de deux cyclites; elles se forment en quantités à peu près égales et se laissent séparer aisément grâce à la différence de solubilité dans l'alcool de leurs dérivés acétylés. L'une de ces cyclites est identique, comme on pouvait s'y attendre, à la méso-inosite. L'autre cyclite fournit un dérivé acétylé beaucoup plus difficilement soluble et possède un point de fusion remarquablement élevé (352° corr.); comme le montre le tableau I, elle présente

¹⁾ Helv. 19, 1335 (1936).

Tableau I.

P. de f.	Formes cristallines	Densité des cristaux de la forme anhydre	Teneur en eau des cristaux de la forme hydratée	Solubilité dans l'eau (en gr. dans 100 cm ³)	P. de f. de l'hexa-acétate
Scyllite (quercine, cocosite)	340° n. corr. ¹⁾ 348,5° corr. ⁴⁾ 350° corr. ⁴⁾ 353° corr. ⁶⁾	Existence d'une forme hydratée efflorescente et d'une forme anhydre clinorhomboïque	1,660 ⁵⁾ 1,659 (à 19°) ⁴⁾	24,9% ⁵⁾	1 (à 18°) ²⁾ 1,51 (à 15°) ¹⁾ 1,7 (à 15°) ³⁾ 1,03 (à 18°) ⁶⁾
Cyclite obtenue par réduction de l'inosose	352° corr.	Existence d'une forme hydratée efflorescente et d'une forme anhydre d'aspect clinorhomboïque	1,656 (à 24°)	24,9%	1,3 (à 15°) 298—299° corr.

¹⁾ Vincent et Delachenal, Bl. [2] **48**, 113 (1887).²⁾ J. Müller, B. **40**, 1823 (1907).³⁾ H. Müller, Soc. **91**, 1768 (1907).⁴⁾ H. Müller, Soc. **101**, 2389 (1912).⁵⁾ Goodson, Soc. **117**, 140 (1920).⁶⁾ Hann et Sando, J. Biol. Chem. **68**, 399 (1926).

de grandes a inactif conn

Rappelo tomes. On l' dans les gla quercine et c tances de ce de scyllite établir défini avec la cycl I ci-dessus p comme extr

L'inosos tation catalyti neutre, on ol gène et le i inosite acco contre, on o constate une il se forme dant à la fo trices fourni s'est donc f drogénation carbonyle, r réaction est cyclo-hexan connaît des

Si l'on de platine l des faits ana sulfurique e viron 2 mo constitué pa il vient d'ê génant dans ou son ison présence d' transposé e acétates d'i c'est-à-dire il se produ

¹⁾ Traité constaté, à l'h

de grandes analogies avec le cyclo-hexane-hexol naturel optiquement inactif connu sous le nom de *scyllite*.

Rappelons que la scyllite a été retirée des organes de plagiostomes. On l'a trouvée également dans le règne végétal, entre autres dans les glands et dans les feuilles de cocotier, d'où les noms de quercine et de cocosite sous lesquels on a désigné autrefois les substances de cette provenance. N'ayant pas d'échantillon authentique de scyllite à notre disposition, nous n'avons pu jusqu'à présent établir définitivement par le point de fusion du mélange son identité avec la cyclite obtenue à partir de l'inosose. L'examen du tableau I ci-dessus permet toutefois d'ores et déjà de considérer cette identité comme extrêmement probable.

L'inosose de *Kluyver* se laisse également réduire par hydrogénéation catalytique en présence d'oxyde de platine. En solution aqueuse neutre, on observe la consommation d'environ une molécule d'hydrogène et le produit de réduction consiste essentiellement en méso-inosite accompagnée d'une très petite quantité de scyllite. Si, par contre, on opère l'hydrogénéation dans l'acide sulfurique dilué¹⁾, on constate une consommation de 2 molécules d'hydrogène environ et il se forme principalement un composé fondant à 233—235° répondant à la formule $C_6H_{12}O_5$; ce produit dépourvu de propriétés réductrices fournit un dérivé penta-acétyle $C_{16}H_{22}O_{10}$ (p. de f. 190°). Il s'est donc formé une *désoxy-inosite* (penta-oxy-cyclo-hexane); l'hydrogénéation a amené ainsi non seulement la réduction du groupe carbonyle, mais encore l'élimination d'un groupe hydroxyle. Cette réaction est intéressante, car elle permet de passer de la série des cyclo-hexane-hexols (inosites) à celle des cyclo-hexane-pentols dont on connaît des représentants naturels (quercites).

Si l'on soumet à l'hydrogénéation catalytique en présence d'oxyde de platine les dérivés acétylés de l'inosose de *Kluyver*, on constate des faits analogues. Dans l'acide acétique glacial en présence d'acide sulfurique concentré, les penta-acétates d'inosose consomment environ 2 mol. d'hydrogène et le produit principal de réduction est constitué par ce penta-acétate de désoxy-inosite (p. de f. 190°) dont il vient d'être question. On obtient les mêmes résultats en hydrogénant dans ces conditions le penta-acétate d'inosose de p. de f. 211° ou son isomère fondant à 147°; ceci n'est pas surprenant puisqu'en présence d'acide sulfurique la forme de point de fusion inférieur se transpose en son isomère. Si, par contre, on hydrogène les penta-acétates d'inosose dans l'acide acétique en l'absence d'acide minéral, c'est-à-dire dans un milieu où la forme de p. de f. 147° est stable, il se produit une consommation d'environ 1 mol. d'hydrogène: on

¹⁾ Traitée dans les mêmes conditions, la méso-inosite résiste, comme nous l'avons constaté, à l'hydrogénéation.

¹⁾ *Vincent et Detachement*, Bl. [2] **48**, 113 (1887).

²⁾ *J. Müller*, B. **40**, 1823 (1907).

³⁾ *H. Müller*, Soc. **91**, 1768 (1907).

⁴⁾ *H. Müller*, Soc. **101**, 2389 (1912).

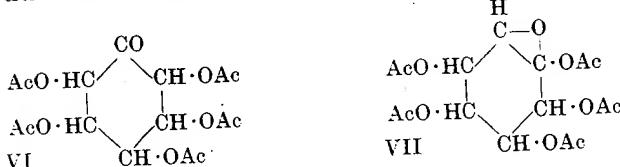
⁵⁾ *Goodson*, Soc. **117**, 140 (1920).

⁶⁾ *Hann et Sando*, J. Biol. Chem. **68**, 399 (1926).

obtient ainsi un mélange contenant principalement une substance ayant la composition d'un penta-acétate d'inosite $C_{16}H_{22}O_{11}$; c'est un dérivé de la méso-inosite car, par acétylation, elle se transforme en hexa-acétate de méso-inosite. En outre, il se forme probablement une petite quantité de penta-acétate de scyllite qui n'a pu être isolé à l'état pur ainsi qu'un peu de penta-acétate de désoxy-inosite.

A en juger d'après ces produits d'hydrogénéation, on pourrait attribuer au penta-acétate d'inosose de p. de f. 147° la formule cétonique VI. D'autre part, on pourrait envisager pour l'isomère de p. de f. 211° entre autres la constitution VII ou encore une formule nou-dimère. Ces formules devront bien entendu être étayées de nouveaux faits expérimentaux.

Dans une communication ultérieure, il sera question de la configuration du nouvel inosose.



Partie expérimentale.

Préparation de l'inosose par voie biochimique¹⁾.

Pour préparer le cyclose par voie biochimique, nous avons procédé de la manière suivante:

Une partie de levure pressée de boulanger est suspendue dans 10 parties d'eau du robinet; on filtre après avoir maintenu 5 minutes à l'ébullition. Le filtrat est additionné de 3% de méso-inosite et réparti dans des erlenmeyers à large col de 100 cm^3 à raison de 20 cm^3 par récipient. Après stérilisation (15 min. à 115°) on inocule au moyen d'une culture d'Acetobacter suboxydans. Cette dernière avait été activée auparavant par plusieurs repiquages à intervalles de 3 jours sur eau de levure à 5% de sorbite. On laisse au thermostat à 30° . Dans plusieurs expériences, nous avons additionné le milieu de culture de 0,1—0,2% de sorbite: il nous a paru que le développement du micro-organisme était plus rapide²⁾; la petite quantité de sorbose formée ne gêne nullement et se laisse éliminer facilement en raison de sa grande solubilité. Après 2 semaines environ, le pouvoir réducteur devient constant. Au bout de 20 jours on filtre sur une couche de norite; le liquide clair dépose après concentration dans le vide des croûtes cristallines qu'on lave à l'eau froide (85% dans le poids de l'inosite mis en œuvre). L'inosose brut ainsi

¹⁾ Cf. Kluyver et Boezaardt, loc. cit.

²⁾ Cf. Dunning et coll., loc. cit.

obtenu peut être il est préférable nylhydrazone:

4,5 gr. d'ind'eau bouillant 6 cm³ de phénylhydrazone heure et demie impuretés colorées d'eau; on introduit benzoïque et on dissout on est liquide épuisé à sose qu'on recueille de 2—3 vol. d'un peu plus d'essence d'acide si (chauffe rapide

3,530

0,3750

C

L'inosose : organiques et c d'eau bouillante très lente dans le vide du cyclose restant indiquées autre la liqueur de F. Traitée par l'i des aldoses d'aron 2 at. d'hal 22,0 mgr. subst. se succ

Une solut de 1 dm s'est

Phénylhydrazone l'avons indiquée à une solution l'eau chaude et par dissolution

¹⁾ Helv. 19,

substance obtenu peut être recristallisé directement dans l'eau chaude, mais il est préférable de purifier le produit par l'intermédiaire de sa phénylehydrazone:

4,5 gr. d'inosose brut finement pulvérisé sont dissous dans 130 cm³ d'eau bouillante. Après refroidissement on ajoute une solution de 6 cm³ de phénylehydrazine dans 12 cm³ d'acide acétique à 50%. La phénylehydrazone se sépare bientôt, elle est essorée au bout d'une heure et demie et lavée à l'eau, puis à l'alcool qui dissout quelques impuretés colorées. Le produit (4,5 gr.) est suspendu dans 100 cm³ d'eau; on introduit 6 cm³ d'aldéhyde benzoïque et 0,2 gr. d'acide benzoïque et on chauffe 15 minutes à l'ébullition à reflux. Après refroidissement on essore la phénylehydrazone de l'aldéhyde benzoïque. Le liquide épuisé à l'éther et concentré dans le vide fournit 2,9 gr. d'inosose qu'on recristallise par dissolution dans l'eau suivie d'addition de 2—3 vol. d'alcool. Petits prismes; le produit a un point de fusion un peu plus élevé (de 2—3°) si l'on opère la cristallisation en présence d'acide sulfurique; il fond alors en se décomposant à 200—202° (chauffe rapide).

3,530 mgr. subst. ont donné 5,210 mgr. CO₂ et 1,840 mgr. H₂O
0,3750 gr. subst. dans 11,33 gr. H₂O; $\Delta = 0,34^\circ$ (cryoscopie)
C₆H₁₀O₆ Calculé C 40,45 H 5,66% P. mol. 178
Trouvé „ 40,25 „ 5,83% „ 181

L'inosose ainsi obtenu est très peu soluble dans les dissolvants organiques et dans l'eau froide. Il se dissout dans environ 20 parties d'eau bouillante; après refroidissement, la substance ne cristallise que très lentement; pour accélérer, il faut concentrer la solution dans le vide ou l'additionner d'alcool. Les propriétés réductrices du cyclose ressemblent à s'y méprendre à celles que nous avons indiquées autrefois pour le stéréo-isomère¹). Il réduit instantanément la liqueur de *Fehling* et la solution ammoniacale de nitrate d'argent. Traité par l'iode en milieu alcalin dans les conditions de dosage des aldoses d'après *Willstaetter-Schudel*, la substance consomme environ 2 at. d'halogène.

22,0 mgr. subst. sont dissous dans 2,75 cm³ d'eau. On laisse 15 min. après additions successives de 5 cm³ I 0,1-n. et de 7,5 cm³ NaOH 0,1-n.
Consommé 2,20 cm³ I 0,1-n., soit 1,8 at. I.

Une solution aqueuse d'inosose à 3% examinée dans un tube de 1 dm s'est montrée optiquement inactive.

Phénylehydrazone. Ce dérivé se sépare rapidement, comme nous l'avons indiqué plus haut, par addition d'acétate de phénylehydrazine à une solution aqueuse d'inosose; il se dissout assez facilement dans l'eau chaude en s'altérant rapidement. Le produit a été recristallisé par dissolution dans une petite quantité de pyridine suivie d'addi-

¹) Helv. 19, 1333 (1936).

tion de quelques volumes d'eau. Feuilles blanches nacrées (rhombes) fondant en tube capillaire à 184° en se décomposant (chauffe rapide).

3,325 mgr. subst. ont donné $0,304 \text{ cm}^3 \text{ N}_2$ (21° , 729,5 mm.)
 $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ Calculé N 10,44 Trouvé N 10,19%

Penta-acétates d'inosose.

Forme de p. de f. 211°. 100 mgr. d'inosose finement pulvérisés sont suspendus dans 0,7 cm³ d'un mélange de 95 vol. d'anhydride acétique et de 5 volumes d'acide sulfurique concentré. La réaction commence déjà à froid; on l'active en maintenant quelques instants à l'ébullition. Dès que tout est dissous, on refroidit le mélange. Le dérivé penta-acétylé se sépare immédiatement en fines aiguilles groupées en rosettes; on les essore et on les lave à l'anhydride acétique. 160 mgr. (p. de f. 207—208°). On retire encore un peu de produit de la solution-mère en la versant dans l'eau. La substance peut être recristallisée dans un mélange d'acide acétique glacial (95 vol.) et d'acide sulfurique concentré (5 vol.) ou mieux encore dans le mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré déjà utilisé pour l'acétylation; elle fond alors nettement à 211°.

$C_{16}H_{20}O_{11}$ Calculé C 49,47 H 5,19%
Trouvé „ 49,23 „ 5,28%

Le même produit s'obtient encore avec un excellent rendement si l'on acétyle l'inosose par l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc anhydre.

Forme de p. de f. 147°. Cette forme s'obtient à partir de la précédente par simple recristallisation en l'absence de catalyseurs acides.

100 mgr. de penta-acétate de p. de f. 211° sont dissous dans 15 cm³ d'alcool absolu bouillant. Après refroidissement il se sépare lentement des tablettes allongées fondant après suintement à 147° (70 mgr.) et dont le point de fusion ne se modifie plus par recristallisation dans l'alcool. La solution-mère évaporée dans le vide à température ordinaire laisse un résidu fondant à 160—210° qui, par recristallisation dans l'alcool bouillant, se transforme à son tour en produit de p. de f. 147°.

4,824 mgr. subst. ont donné 8,735 mgr. CO_2 et 2,260 mgr. H_2O
 0,1530 gr. subst. dans 7,82 gr. CH_3COOH ; $\Delta = 0,21^\circ$ (cryoscopie)
 $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ Calculé C 49,47 H 5,19% P. mol. 388
 Trouvé 49,38 .. 5,24% 363

On obtient encore le penta-acétate de p. de f. 147° en recristallisant l'isomère de p. de f. élevé dans l'acide acétique où il est assez soluble, ou dans l'anhydride acétique.

Traité par l'anhydride ou l'acide acétique en présence d'acide sulfurique concentré, ou encore de chlorure de zinc anhydre, le penta-acétate de p. de f. 147° régénère son isomère fondant à 211°. Il nous

a été impossible de moyen des cristaux ne sont probablem-

En solution alcoolique, en présence de colorant, en présence de substances décolorantes, en présence de substances colorantes.

50 mgr. d'inoso de chlorure de benz fondu. On chauffe de calcium, pour ce puis, au fur et à mesure que ralentit, on élève bout d'une heure de l'éprouvette se d'alcool. La poudre p. de f. 220—243°. les dissolvants organiques bouillants qu'elle se mélange des deux

*Forme de p. de
dans l'anhydride :
le point de fusion*

Forme de p. d
produit précédent
acétique glacial e
froidissement, il se
aiguilles; on les e
P. de f. 286°. La
petites quantités
fond de manière
le point de fusio

Préparation de déi

1, 2, 3, 5-Tétition à reflux ur

hommes)
rapide).

risés sont
acétique
immense
l'ébulli-
e dérivé
upées en
160 mgr.
la solu-
recristal-
d'acide
ge d'an-
isé pour
ndement
sence de
e la pré-
s acides.
us dans
e sépare
t à 147°
cristalli-
e à tem-
qui, par
tour en
)
cristalli-
est assez
d'acide
e penta-
Il nous

a été impossible de transformer l'une des formes par inoculation au moyen des cristaux de l'autre: les différences entre les deux composés ne sont probablement pas dues à un phénomène de dimorphisme.

En solution alcoolique, les deux penta-acétates ne donnent pas de coloration en présence de chlorure de fer(III). En solution acétique, en présence comme en l'absence d'acide sulfurique, les substances ne décolorent ni l'eau de brome ni le permanganate.

Penta-benzoates d'inosose.

50 mgr. d'inosose finement pulvérisés sont suspendus dans 0,3 cm³ de chlorure de benzoyle et additionnés d'un peu de chlorure de zinc fondu. On chauffe dans une éprouvette munie d'un tube à chlorure de calcium, pour commencer à 70° (température du bain extérieur) puis, au fur et à mesure que le dégagement de gaz chlorhydrique se ralentit, on élève graduellement la température jusqu'à 100°. Au bout d'une heure de chauffe, la réaction est terminée et le contenu de l'éprouvette se prend en masse. On dilue de quelques volumes d'alcool. La poudre cristalline est essorée et lavée à l'alcool: 160 mgr.; p. de f. 220—243°. La substance ainsi obtenue est peu soluble dans les dissolvants organiques; c'est dans l'acide et l'anhydride acétiques bouillants qu'elle se dissout le mieux; elle représente sans doute un mélange des deux formes décrites plus bas.

Forme de p. de f. 188°. Elle s'obtient en recristallisant le produit dans l'anhydride acétique; après la première recristallisation déjà, le point de fusion s'abaisse à 188° et reste ensuite constant.

3,515 mgr. subst. ont donné 9,070 mgr. CO₂ et 1,390 mgr. H₂O

C₄₁H₃₀O₁₁ Calculé C 70,47 H 4,33%

Trouvé „, 70,37 „, 4,43%

Forme de p. de f. 286°. On la prépare en dissolvant à chaud le produit précédent dans 600 parties d'un mélange de 95 vol. d'acide acétique glacial et de 5 vol. d'acide sulfurique concentré. Par refroidissement, il se sépare une poudre cristalline formée de très petites aiguilles; on les essore et on les lave modérément à l'acide acétique. P. de f. 286°. La stabilité du produit semble liée à la présence de petites quantités d'acide minéral. En effet, si on lave le produit à fond de manière à éliminer les dernières traces d'acide sulfurique, le point de fusion s'abaisse considérablement.

3,425 mgr. subst. ont donné 8,825 mgr. CO₂ et 1,38 mgr. H₂O

C₄₁H₃₀O₁₁ Calculé C 70,47 H 4,33%

Trouvé „, 70,27 „, 4,51%

Préparation de dérivés du 1,2,3,5-tétra-oxy-benzène à partir de dérivés de l'inosose.

1, 2, 3, 5-Tétracétoxy-benzène. On chauffe 3 minutes à l'ébullition à reflux un mélange de 7 parties d'anhydride acétique, de

1 partie d'acétate de sodium anhydre et de 1 partie de penta-acétate d'inosose (il est indifférent d'employer la forme de p. de f. 211° ou celle fondant à 147°). Après refroidissement on jette dans l'eau; le produit précipité fournit par recristallisation dans l'alcool de longues et fines aiguilles fondant à 106—108° qui, par le point de fusion de leur mélange avec un échantillon authentique, ont été identifiées au 1,2,3,5-tétra-acétoxy-benzène.

Le même tétra-acétate s'obtient si l'on traite durant 12 heures à froid une des formes du penta-acétate d'inosose par 5 parties d'un mélange à volumes égaux de pyridine anhydre et d'anhydride acétique. On l'obtient également, à vrai dire, à l'état moins pur, si l'on acétyle directement l'inosose par l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium ou de pyridine anhydre.

1-Oxy-2,3,5-tribenzoyloxy-benzène. Ici encore on obtient les mêmes résultats quelle que soit la forme du dérivé penta-acylé mis en œuvre.

Un mélange de 100 mgr. de penta-benzoate d'inosose et de 100 mgr. d'acétate de sodium anhydre est chauffé 3 minutes à l'ébullition en présence de 0,6 cm³ d'acide acétique glacial. Après refroidissement, on verse dans l'eau; le produit précipité durcit rapidement. Après recristallisation dans l'alcool, il forme des paillettes brillantes (60 mgr.), fondant à 167—168°. Le mélange avec un échantillon de 1-oxy-2,3,5-tribenzoyl-oxy-benzène préparé à partir de l'inosose obtenu par oxydation nitrique fond à la même température.

Réduction de l'inosose par l'amalgame de sodium. Préparation d'une cyclite probablement identique à la scyllite.

0,5 gr. d'inosose sont dissous dans 30 cm³ d'eau; on introduit d'abord 2,5 cm³ d'acide acétique normal, puis 2 gr. d'amalgame de sodium à 2,5% et on agite jusqu'à destruction complète de l'amalgame. On traite encore à 4 reprises par 2 cm³ d'acide acétique normal et 2 gr. d'amalgame de sodium. Le liquide doit rester continuellement acide au tournesol; à la fin de l'opération, il ne réduit plus la liqueur de *Fehling*. La solution est évaporée à sec dans le vide; le résidu est desséché soigneusement dans le vide à 100° et pulvérisé. On l'additionne de 5 cm³ d'anhydride acétique et on maintient 20 minutes à l'ébullition à reflux. Après refroidissement, on verse dans l'eau; au bout de quelques heures le mélange brut des hexaacétates (1,1 gr.) est essoré, lavé, séché et pulvérisé; on le traite par 40 cm³ d'alcool absolu bouillant. Une partie reste insoluble (0,4 gr.); on l'essore à chaud sur un filtre de verre fritté. La solution dépose par refroidissement 0,5 gr. environ d'hexa-acétate de mésoinosite; point de fusion (après recristallisation dans l'alcool) 212°; le mélange avec un échantillon authentique fond à la même température.

Les 0,4; recristallisation tablettes rec tube capillaire extrêmement facilement Ainsi qu'il : très probabl

3,875; 3,925 r

Cyclite pend 420 mg d'alcool bou baryte dans reflux; le dé barytique d' eau, ce q et on chau liquide dilu par la quan ensuite à s P. de f. 352

4

On a
a) une f brillai
b) une f gros 1

Expos perdent ra et en tom en eau de de son eff perdu à 1 de 3,5 aq. égale à 1, minée à 24 lène-xylén

1) Good hydratée de

de penta-acétate
p. de f. 211° où
jetée dans l'eau;
dans l'alcool de
par le point de
que, ont été iden-

lurant 12 heures
ar 5 parties d'un
d'anhydride acé-
at moins pur, si
acétique en pré-
.

on obtient les
penta-acylé mis

d'inosose et de
minutes à l'ébul-
al. Après refroi-
té durcit rapide-
ne des paillettes
e avec un échan-
à partir de l'ino-
e température.

préparation d'une
ite.

au; on introduit
d'amalgame de
mplète de l'amal-
acétique normal
ester continuelle-
ne réduit plus la
dans le vide; le
00° et pulvérisé.
et on maintient
ement, on verse
brut des hexa-
isé; on le traite
reste insoluble
itté. La solution
acétate de mésos-
is l'alcool) 212°;
la même tempé-

Les 0,4 gr. non dissous dans l'alcool fondent à 280—285°; par recristallisation dans l'anhydride acétique la substance se sépare en tablettes rectangulaires très allongées. P. de f.: 285—286° (n. corr.; tube capillaire); 298—299° (corr.; bloc *Maquenne*). La substance est extrêmement peu soluble dans l'alcool chaud; elle se dissout plus facilement dans l'acide ou mieux encore dans l'anhydride acétique. Ainsi qu'il a été exposé dans la partie théorique, ce composé est très probablement identique à l'hexa-acétate de scyllite.

3,875; 3,925 mgr. subst. ont donné 7,055; 7,155 mgr. CO₂ et 1,985; 2,070 mgr. H₂O

C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	Calculé C 49,99	H 5,60%
	Trouvé „, 49,65; 49,72	„, 5,73; 5,90%

Cyclite (à partir de l'hexa-acétate de p. de f. 299° corr.). On suspend 420 mgr. de dérivé hexa-acétylé finement pulvérisé dans 10 cm³ d'alcool bouillant, puis on introduit 10 cm³ d'une solution 0,6-n. de baryte dans l'alcool méthylique et on maintient à l'ébullition à reflux; le dérivé hexa-acétylé se dissout et il se sépare une combinaison barytique de la cyclite. Au bout d'une demi-heure on dilue de 20 cm³ d'eau, ce qui fait passer en solution la majeure partie du précipité, et on chauffe encore un quart d'heure à l'ébullition à reflux. Le liquide dilué encore de 2 vol. d'eau est débarrassé des ions baryum par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique; on évapore ensuite à sec dans le vide. Le résidu est recristallisé dans l'eau. P. de f. 352° (corr.; bloc *Maquenne*).

4,010 mgr. subst. ont donné 5,880 mgr. CO₂ et 2,340 mgr. H₂O

C ₆ H ₁₂ O ₆	Calculé C 40,00	H 6,72%
	Trouvé „, 39,99	„, 6,53%

On a observé deux formes cristallines du produit:

- une forme anhydre (qui se sépare à chaud); petits prismes brillants d'aspect clinorhombique;
- une forme hydratée obtenue par cristallisation lente à froid; gros prismes transparents et efflorescents.

Exposés à l'air à température ordinaire les cristaux de la forme b) perdent rapidement leur eau de cristallisation en devenant opaques et en tombant en poudre. Nous avons essayé d'établir la teneur en eau de cristallisation du produit, ce qui est difficile en raison de son efflorescence. Des cristaux séchés quelques heures à 4° ont perdu à 100° 24,9%¹⁾ de leur poids, ce qui indiquerait la présence de 3,5 aq. La solubilité du produit dans l'eau à 15° a été trouvée égale à 1,3%. La densité des cristaux de la forme anhydre déterminée à 24° par la méthode du mélange des liquides (bromure d'éthylène-xylène) était de 1,656.

¹⁾ *Goodson* (loc. cit.) indique exactement la même teneur en eau pour la forme hydratée de la scyllite.

Hydrogénations catalytiques de l'inosose.

Hydrogénéation en solution neutre. 100 mgr. d'inosose dissous dans 5 cm³ d'eau sont hydrogénés à pression et à température ordinaires en présence de 40 mgr. d'oxyde de platine. Au bout d'une heure et demie, l'hydrogénéation est terminée; consommé 1,05 mol. d'hydrogène (après défaillance de la quantité nécessaire pour réduire l'oxyde de platine). Le liquide, qui ne réduit plus la liqueur de *Fehling*, est évaporé à sec dans le vide; il laisse un résidu fondant en majeure partie vers 210° et qui consiste essentiellement en méso-inosite accompagnée d'un peu de la cyclite que nous considérons comme identique à la scyllite. La purification a été faite par l'intermédiaire des dérivés acétylés obtenus par 5 minutes d'ébullition en présence d'anhydride acétique et de chlorure de zinc. Le produit acétylé (200 mgr.) est traité par 8 cm³ d'alcool bouillant; une partie (10 mgr.) restée insoluble est essorée à chaud; après recristallisation dans l'anhydride acétique elle fond à 286° n. corr. et est identique (p. de f. du mélange) au dérivé acétylé du produit obtenu par réduction de l'inosose au moyen de l'amalgame de sodium. Le dérivé acétylé soluble dans l'alcool chaud cristallise par refroidissement en feuillets (rhombes) fondant à 212°. Il a été identifié, par le point de fusion de son mélange avec un échantillon authentique, à l'hexa-acétate de méso-inosite.

Hydrogénéation en solution sulfurique. *Préparation d'une désoxy-inosite.* 100 mgr. d'inosose sont dissous dans 5 cm³ d'un mélange de 95 vol. d'eau et de 5 vol. d'acide sulfurique concentré. On hydrogène en présence de 40 mgr. d'oxyde de platine; la réaction est terminée en 1 heure après consommation de 2,2 mol. d'hydrogène. On élimine l'acide sulfurique par la quantité strictement nécessaire de baryte. Le liquide évaporé à sec dans le vide laisse un résidu cristallisé de désoxy-inosite fondant à 225—230°; son mélange avec un échantillon de méso-inosite (p. de f. 223°) fond à 205°. La désoxy-inosite a été purifiée par l'intermédiaire de son dérivé penta-acétylé; ce dernier obtenu par ébullition en présence d'anhydride acétique et de chlorure de zinc se laisse facilement recristalliser dans l'alcool. Rhombes très allongés fondant à 190°.

3,855 mgr. subst. ont donné 7,255 mgr. CO₂ et 2,010 mgr. H₂O
C₁₆H₂₂O₁₀ Calculé C 51,33 H 5,93%
 Trouvé „ 51,33 „ 5,83%

80 mgr. de penta-acétate de désoxy-inosite sont dissous à chaud dans 3 cm³ d'alcool absolu; on ajoute 2,5 cm³ d'une solution 0,5-n de baryte dans l'alcool méthylique. Il se forme immédiatement un précipité qui se redissout en majeure partie après addition de 10 cm³ d'eau. On chauffe encore 15 minutes à 80°. Après élimination de la baryte par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique le liquide est évaporé à sec et laisse un résidu qu'on cristallise par

dissolution dans trouble persistant (après suintement 2,465 mg)

Hydrogén-

En présence sose (on peut utiliser celle de p. de f. lumes d'acide a concentré. On une atmosphère La réaction est de 2,1 mol. d'hy moyen d'eau à lentement 25 mg cristallisation du produit décrit par rassée de son acide de baryte est érupeux, est réac de zinc. On obt 25 mgr. de pen accompagnés d'i bouillant consis après recristallis

En l'absence 140 mgr. de pen de p. de f. 147° présence de 40 r gène. Après fil résidu est repris (120 mgr.). Pa d'abord des aiguilles Les aiguilles (80 possèdent la co

3,562 m

Acétylé pa zinc le produit dant à 212° de tique.

dissolution dans un peu d'eau suivie d'addition d'alcool jusqu'à trouble persistant. Prismes obliques allongés. P. de f. 233—235° (après suintement).

2,465 mgr. subst. ont donné 3,980 mgr. CO₂ et 1,620 mgr. H₂O

C₈H₁₂O₅ Calculé C 43,90 H 7,37%
Trouvé „ 44,03 „ 7,35%

Hydrogénations catalytiques des penta-acétates d'inosose.

En présence d'acide sulfurique. 100 mgr. de penta-acétate d'inosose (on peut utiliser indifféremment la forme de p. de f. 211° ou celle de p. de f. 147°) sont dissous dans 3 cm³ d'un mélange de 95 volumes d'acide acétique glacial et de 5 volumes d'acide sulfurique concentré. On introduit 50 mgr. d'oxyde de platine et agite dans une atmosphère d'hydrogène à température et à pression ordinaires. La réaction est terminée au bout d'une heure après consommation de 2,1 mol. d'hydrogène. La solution acétique filtrée est diluée au moyen d'eau à 25 cm³. On abandonne à la glacière; il se sépare lentement 25 mgr. de penta-acétate de désoxy-inosite qui, après recristallisation dans l'alcool, fondent isolément ou mélangés avec le produit décrit précédemment, à 188—190°. La solution-mère débarrassée de son acide sulfurique par la quantité strictement nécessaire de baryte est évaporée dans le vide. Le résidu, en grande partie sirupeux, est réacétylé par l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc. On obtient ainsi après recristallisation dans l'alcool encore 25 mgr. de penta-acétate de désoxy-inosite (p. de f. 190°); ils sont accompagnés d'une petite quantité d'un produit insoluble dans l'alcool bouillant consistant en hexa-acétate de scyllite (p. de f. n. corr. 286° après recristallisation dans l'anhydride acétique).

En l'absence d'acide sulfurique; penta-acétate de méso-inosite. 140 mgr. de penta-acétate d'inosose (forme de p. de f. 211° ou forme de p. de f. 147°) sont hydrogénés dans 6 cm³ d'acide acétique en présence de 40 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 1,1 mol. d'hydrogène. Après filtrage la solution est évaporée à sec dans le vide; le résidu est repris par un peu d'alcool froid et cristallise rapidement (120 mgr.). Par recristallisation dans l'alcool (1 cm³) il se sépare d'abord des aiguilles longues et fines, puis des cristaux indistincts. Les aiguilles (80 mgr.) fondent après recristallisation à 161—162° et possèdent la composition d'un penta-acétate de méso-inosite.

3,562 mgr. subst. ont donné 6,455 mgr. CO₂ et 1,84 mgr. H₂O

C₁₆H₂₂O₁₁ Calculé C 49,22 H 5,69%
Trouvé „ 49,42 „ 5,78%

Acétylé par l'anhydride acétique en présence de chlorure de zinc le produit se transforme en hexa-acétate de méso-inosite fondant à 212° de même que son mélange avec un échantillon authentique.

Les produits provenant de la solution-mère du penta-acétate d'inosite représentent un mélange difficile à séparer. Après acétylation on a pu en retirer, grâce à sa faible solubilité dans l'alcool, de l'hexa-acétate de scyllite. Ce dernier est accompagné d'une petite quantité de penta-acétate de désoxy-inosite (p. de f. 190°).

Genève, Laboratoires de Chimie organique et inorganique de l'Université.

120. Über die Fraktionierung von Gelatine

von R. Signer und H. Mosimann.

(25. VIII. 41.)

Theoretisches.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche hochmolekulare polisperse Stoffe durch Fraktionierung in Reihen von Substanzen verschiedener mittlerer Molekulargewichte zerlegt. Die Tatsache, dass diese Aufteilung möglich ist, und dass viele Eigenschaften der erhaltenen Fraktionen, wie Löslichkeit, Lösungsgeschwindigkeit, Viskosität der Lösungen usw., systematisch mit der Molekelgrösse variieren, hat viel zur Abklärung des Baues hochmolekularer Verbindungen beigetragen. Die niedermolekularen Produkte aus einer solchen Reihe schliessen sich an die einheitlichen Substanzen an, denen man in der organischen Chemie seit langem umzugehen gewohnt ist, die höhermolekularen ergeben den systematischen Übergang zu den Stoffen mit ausgeprägten Kolloideigenschaften. Bei synthetischen Polymerisations- und Kondensationsprodukten ist die Möglichkeit gegeben, vom Monomeren aus durch die systematische Veränderung der Bildungsbedingungen zu ähnlichen Stoffreihen zu kommen. Mit der Erforschung hochmolekularer Stoffe durch Herstellung und Beschreibung polymerhomologer Reihen hat sich in den letzten Jahrzehnten insbesondere Staudinger¹⁾ mit seinen Mitarbeitern beschäftigt.

Vor etwa 10 Jahren wurde besonders lebhaft die Frage des Lösungszustandes solcher hochpolymerer Stoffe diskutiert. Auf einer Seite wurde die Auffassung vertreten, kleine Einheiten, Molekeln aus einigen Dutzend Atomen, lagern sich zu Micellen zusammen. Während die Atome in der Molekel durch Hauptvalen-

¹⁾ Vgl. die Mitteilungen über hochmolekulare Verbindungen von Staudinger und Mitarbeitern, sowie die Bücher „Die hochmolekularen org. Verbindungen“, Berlin 1934, Verlag J. Springer und „Org. Kolloidchemie“, Die Wissenschaften Bd. 93, Vieweg, Braunschweig 1940.

bindungen einzelnen schaften Micellgrösse viel Beständigkeit homöopol gehe, wobei vorliegen laren Stoffe Heute ist micellare Gelösten,

Ein solches wurde, ist Temperatur H wobei dies abhängig nicht ausreicht auf, kühlt in einem T so stellt nach 5 Tagen ein

beträgt nach einer Stunde etwa 50°, wie man im Stehen erhöhung der Lösung Annahme Durch die weise zerstört der aus.

Es ist Seifen, in der ist Micellbildung. Löst diesem Lösung steigen der gekühlt und

Der V führt zu d



TRANSEMANTICS, INC.
TRANSLATION DIVISION
4301 Connecticut Avenue, N.W.
Suite 146
Washington, D.C. 20008 USA

Tel phone: (202) 686-5600
Facsimile: (202) 686-5603

CERTIFICATION

This is to certify that the scientific article titled:

Research on the cyclite V series. On an inosose prepared by biochemical means

by Théodore Posternak and dated August 23, 1941, is a true and accurate translation from French into English, to the best of my knowledge and belief.



Allen Cooperman
10/8/2003

EV 298496817 US

119. Research on the cyclite V series.
On an inosose prepared by biochemical means ⁽¹⁾
by Théodore Posternak.
(23. VIII. 41.)

In 1936 we demonstrated that by treating meso-inosite under certain conditions with concentrated nitric acid, we obtain a well crystallized cyclose, $C_6H_{10}O_6$ (I) which we have named inosose ⁽²⁾.

[COMPOUND DIAGRAM I]

This ketonic sugar is distinguished primarily by the intensity of its reducing properties: it instantaneously reduces Fehling solution and ammoniacal silver nitrate solution under cold conditions; when treated with iodine in an alkaline medium, it consumes about 2 halogen atoms.

Not long ago, Kluyver and Boezaardt ⁽³⁾ studied the action of an oxidizing bacterium (*Acetobacter suboxydans*, Kluyver and de Leeuw) on meso-inosite. Contrary to previous indications by other authors ⁽⁴⁾, they noted that, under the action of the micro-organism, cyclite, similarly to aliphatic poly-alcohols, gives rise to a ketose; the ketose is formed with a 90% yield. This compound melts at 200°, instantaneously reduces Fehling solution under cold conditions, and Kluyver and Boezaardt consider it identical to the inosose that we had obtained in the past through nitric oxidation. As professor Kluyver was kind enough to provide us not only with a sample of his substance, but also a strain of the micro-organism, we were able to prepare a certain quantity of inosose by biochemical means and study its reactions.

To start with, we noticed that Kluyver's inosose greatly resembles the substances that we had produced by purely chemical means in terms of its melting point and its reducing properties. But as soon as we come to the acylated derivatives, we notice substantial differences: the inosose produced by nitric oxidation yields a penta-acetate melting at 106-108° and a penta-benzoate melting at 144°; as we shall see later, the melting points of the corresponding derivatives of Kluyver's inosose are quite different. There is consequently no doubt that the two cycloses are not identical, but instead represent stereo-isomers.

¹ Preliminary address: C. r. Soc. phys. hist. nat. Geneva 58, 44 (1941).

² Th. Posternak, Helv. 19, 1333 (1936).

³ R. 58, 956 (1939).

⁴ Dunning, Fullmer, Guymon, and Underkofler, Science 87, 72 (1938).

The inosose prepared by biochemical means has the formula $C_6H_{10}O_6$. It is optically inactive. It provides a well crystallized phenylhydrazone. Its penta-acylated derivatives give rise to curious phenomena:

Under the action of acetic anhydride and in the presence of acid catalysts (sulfuric acid, zinc chloride), inosose provides a penta-acetate; this substance, after re-crystallization in acetic acid or acetic anhydride in the presence of the same catalysts, melts at 211° . If, however, the substance is crystallized in alcohol, in acetic acid, or in acetic anhydride in the absence of these catalysts, it is transformed into a product having the same composition that melts at 147° . Conversely, this latter product regenerates the penta-acetate with a melting point of 211° when it is crystallized in acetic acid or in acetic anhydride in the presence of sulfuric acid. In other words, the product having a high melting point is only formed in the presence of acid catalysts. When abandoned in the crystallized state in the absence of a solvent, the two forms are stable. Furthermore, we did not observe any transformation when one of these forms was put in contact with the other's crystals: as a result, the differences between the two substances are probably not due to a dimorphism phenomenon.

The penta-benzoate from Kluyver's inosose gives rise to comparable phenomena. We prepared it by treating the cyclose with benzoyl chloride in the presence of anhydrous zinc chloride. Here again, we found the existence of two isomers that are easily converted in each other. The high melting point form (286°) is obtained by crystallization in acetic acid in the presence of sulfuric acid; the other, which melts at 188° , is prepared most easily through crystallization in acetic anhydride in the absence of sulfuric acid.

All these acylated derivatives from the new inosose lead to reactions that we had already observed during the study of inosose produced by nitric oxidation ⁽⁵⁾. Through the action of acetic anhydride in the presence of alkaline catalysts (sodium acetate, pyridine), the two forms of the penta-acetate give rise to 1,2,3,5-tetra-acetoxy-benzene, compound II. This compound is also obtained if the cyclose is acetylated with acetic anhydride in the presence of the same alkaline catalysts. In addition, the two penta-benzoates, compound III, when subjected to the action of the sodium acetate or pyridine in an acetic solution, are converted into 1-oxy-2,3,5-tribenzoyl-oxy-benzene, compound V, through the loss of two benzoic acid molecules. As we had previously indicated, this conversion probably takes place through the enolic compound, compound IV. This tendency to form derivatives of 1,2,3,5-tetra-acetoxy-benzene is therefore found in the acylated derivatives of the two inososes and we can thus see that it is not linked to a particular configuration of the cyclose.

⁵ Helv. 19, 1335 (1936).

[COMPOUND DIAGRAMS II, III, IV, AND V]

Kluyver's inosose is very easily reduced by the sodium amalgam in an acetic solution. As predicted by theory, we thus obtain a mixture of two cyclites; they are formed in roughly equal quantities and are easily separated thanks to the difference in the alcohol solubility of their acetylated derivatives. As one could expect, one of these cyclites is identical to meso-inosite. The other cyclite provides an acetylated derivative that is much less soluble and has a remarkably high melting point (352° corr.); as shown in Table I, it shows great similarities to the optically inactive cyclo-hexane-hexol known by the name of scyllite.

Table I

	Melting point	Crystalline forms	Density of crystals of the anhydrous form	Water content of crystals of the hydrated form	Solubility in water (in g in 100 cc)	Melting point of the hexa-acetate
Scyllite (quercin, cocosite)	340° n. corr. (1) 348.5° corr. (4) 350° corr. (4) 353° corr. (5)	Existence of an efflorescent hydrated form and a clinorhombic anhydrous form	1.660 (3) 1.659 (at 19°) (4)	24.9% (5)	1 (at 18°) (2) 1.51 (at 15°) (1) 1.7 (at 15°) (3) 1.03 (at 18°) (5)	301° corr. (1) 290-291° corr. (4) 291° corr. (5, 6)
Cyclite made by reduction of inosose	352° corr.	Existence of an efflorescent hydrated form and an anhydrous form having a clinorhombic appearance	1.656 (at 24°)	24.9%	1.3 (at 15°)	298-299° corr.

- 1) Vincent and Delachenal, Bl. [2] 48, 113 (1887).
- 2) J. Müller, B. 40, 1823 (1907).
- 3) H. Müller, Soc. 91, 1768 (1907).
- 4) H. Müller, Soc. 101, 2389 (1912).
- 5) Goodson, Soc. 117, 140 (1920).
- 6) Hann and Sando, J. Biol. Chem. 68, 399 (1926).

Let us recall that scyllite has been taken from the organs of plagiostomes. It has also been found in the plant kingdom, in acorns and the leaves of palm trees, among others, hence the names of quercin and cocosite by which the substances of these origins were designated in the past. As we had no authentic sample of scyllite available to us, we have thus far not been able to definitively establish its identity with the cyclite obtained from inosose, based on the mixture's melting point. An examination of Table I above, however, allows this identity to be considered very probable at this point.

Kluyver's inosose is also reduced by catalytic hydrogenation in the presence of platinum oxide. In a neutral aqueous solution we observe the consumption of approximately one molecule of hydrogen and the reduction product consists essentially of meso-inosite accompanied by a very small quantity of scyllite. If, however, the hydrogenation is done in diluted sulfuric acid ⁽⁶⁾, we find that approximately 2 molecules of hydrogen are consumed and a compound melting at 233-235° having the formula $C_6H_{12}O_5$ is primarily formed; this product lacking reducing properties provides a penta-acetylated derivative having the formula $C_{16}H_{22}O_{10}$ (melting point 190°). A deoxy-inosite (penta-oxy-cyclo-hexane) is therefore formed; consequently, not only did the hydrogenation lead to reduction of the carbonyl group, but it also eliminated a hydroxyl group. This reaction is interesting because it makes it possible to go from the series of cyclo-hexane-hexols (inosites) to that of cyclo-hexane-pentols for which there are known natural representatives (quercites).

If the acetylated derivatives of Kluyver's inosose are subjected to catalytic hydrogenation in the presence of platinum oxide, we arrive at similar findings. In glacial acetic acid in the presence of concentrated sulfuric acid, the inosose penta-acetates consume about 2 moles of hydrogen and the main reduction product consists of this penta-acetate of deoxy-inosite (melting point 190°) just mentioned above. We obtain the same results by hydrogenating, under these same conditions, the penta-acetate of inosose having a melting point of 211° or its isomer melting at 147°; this is not surprising, since in the presence of sulfuric acid, the form having the lower melting point is converted into its isomer. If, however, we hydrogenate the inosose penta-acetates in acetic acid in the absence of a natural acid, that is, in a medium where the form having a melting point of 147° is stable, approximately 1 mole of hydrogen is consumed: we thus obtain a mixture primarily containing a substance having the composition of an inosose penta-acetate, formula $C_{16}H_{22}O_{11}$; this is a derivative of meso-inosite because it is transformed into meso-inosite hexa-acetate through acetylation. Furthermore, a small quantity of scyllite penta-acetate that could not be isolated in the pure state, as well as a small amount of deoxy-inosite penta-acetate, are probably formed.

Judging by these hydrogenation products, ketone formula VI could be attributed to the inosose penta-acetate having a melting point of 147°. Furthermore, we could consider formula VII or a dimer formula, among others, for the isomer having a melting point of 211°. Naturally, these formulas will have to be supported by new experimental findings.

The configuration of the new inosose will be discussed in a subsequent paper.

⁶⁾ As we have seen, the meso-inosite resists hydrogenation when processed under the same conditions.

[FORMULAS VI AND VII]

Experimental Portion
Preparation of inosose by biochemical means ⁽⁷⁾

In order to prepare the cyclose by biochemical means, we proceeded in the following manner:

A portion of pressed baker's yeast is suspended in 10 parts tap water; it is filtered after boiling for 5 minutes. We add 3% meso-inosite to the filtrate and the filtrate is distributed among 100-cc broad-mouth erlenmeyer flasks in the amount of 20 cc per container. After sterilization (15 minutes at 115°) it is inoculated with a culture of *Acetobacter suboxydans*. This culture had been activated previously by several reinoculations at 3-day intervals with yeast water containing 5% sorbitol. It is left at 30° with the thermostat. In several experiments, we added 0.1-0.2% sorbitol to the culture medium: we found that development of the micro-organism was faster ⁽⁸⁾; the small quantity of sorbose generated is not at all a problem and is easily eliminated on account of its high solubility. After about 2 weeks, the reducing power becomes constant. After 20 days, we filter with a layer of norite; after concentration in a vacuum, the clear liquid deposits crystalline flakes which are washed with cold water (about 85% of the weight of inosite used). The raw inosose thus obtained can be recrystallized in hot water, but it is preferable to purify the product by means of its phenylhydrazone:

4.5 g of finely pulverized raw inosose are dissolved in 130 cc of boiling water. After cooling, we add a solution of 6 cc of phenylhydrazine in 12 cc of 50% acetic acid. The phenylhydrazone soon separates out; it is spun after one and a half hours and washed with water and then alcohol, which dissolves some colored impurities. The product (4.5 g) is suspended in 100 cc of water; we add 6 cc of benzaldehyde and 0.2 g of benzoic acid and then heat for 15 minutes with reflux boiling. After cooling, we separate the phenylhydrazone from the benzaldehyde. The liquid, after suction filtering with ether and vacuum concentration, yields 2.9 g of inosose that is recrystallized by dissolving in water followed by the addition of 2-3 volumes of alcohol. Small prisms; the product has a slightly higher melting point (by 2-3°) if the crystallization is done in the presence of sulfuric acid; it then melts and decomposes at 200-202° (rapid heating).

3.530 mg substance yielded 5.210 mg CO₂ and 1.840 mg H₂O
0.3750 g of substance in 11.33 g H₂O; Delta = 0.34° (cryoscopy)
C₆H₁₀O₆ Theoretical C 40.45 H 5.66% Mol. W. 178
 Measured C 40.25 H 5.83% Mol. W. 181

⁷⁾ Cf. Kluyver and Boezaardt, loc. cit.

⁸⁾ Cf. Dunning et al., loc. cit.

The inosose thus obtained has very poor solubility in organic solvents and cold water. It dissolves in approximately 20 parts boiling water; after cooling, the substance crystallizes very slowly; in order to accelerate it, the solution needs to undergo vacuum concentration or alcohol needs to be added. The reducing properties of the cyclose are similar to the point of being mistaken for those which we have indicated in the past for the stereo-isomer ⁽⁹⁾. It instantaneously reduces Fehling solution and ammoniacal silver nitrate solution. When treated with iodine in an alkaline medium under aldose assay conditions according to Willstaetter-Schudel, the substance consumes about 2 halogen atoms.

22.0 mg of substance are dissolved in 2.75 cc of water. Allowed to sit for 15 minutes, then successive addition of 5 cc Iodine 0.1-N and 7.5 cc NaOH 0.1-N.

Consumes 2.20 cc Iodine 0.1-N, i.e., 1.8 atoms of I.

An aqueous solution of inosose at 3% examined in a 1 dm tube proved optically inactive.

Phenylhydrazone. This derivative is prepared quickly, as we have indicated above, by adding phenylhydrazine acetate to an aqueous solution of inosose; it dissolves fairly quickly in the hot water and is quickly altered. The product was recrystallized by dissolving in a small quantity of pyridine followed by the addition of a few volumes of water. Pearly white sheets (rhombs) melt in a capillary tube at 184° while decomposing (rapid heating).

3.325 mg of substance yielded 0.304 cc N₂ (21°, 729.5 mm)
C₁₂H₁₆N₂O₅ Theoretical N 10.44 Measured N 10.19%

Inosose Penta-Acetates

Form with melting point of 211°. 100 mg of finely pulverized inosose are suspended in 0.7 cc of a mixture of 95 volumes of acetic anhydride and 5 volumes of concentrated sulfuric acid. The reaction already starts when cold; it is activated by keeping it boiling for a few moments. As soon as everything is dissolved, the mixture is cooled. The penta-acetylated derivative immediately separates into fine needles grouped in rosettes; they are spun and washed with acetic anhydride. 160 mg (melting point 207-208°). A little more product is extracted from the stock solution by pouring it into water. The substance can be recrystallized in a mixture of glacial acetic acid (95 volumes) and concentrated sulfuric acid (5 volumes) or, better still, in the mixture of acetic anhydride and concentrated sulfuric acid already used for acetylation; it then clearly melts at 211°.

4.922 mg of substance yielded 8.885 mg CO₂ and 2.32 mg H₂O
C₁₆H₂₀O₁₁ Theoretical C 49.47 H 5.19%

⁹⁾ Helv. 19, 1333 (1936).

Measured C 49.23 H 5.28%

The same product is again obtained with an excellent yield if the inosose is acetylated with the acetic anhydride in the presence of anhydrous zinc chloride.

Form with melting point of 147°. This form is obtained from the foregoing one by simple re-crystallization in the absence of acidic catalysts.

100 mg of penta-acetate with a melting point of 211° are dissolved in 15 cc of boiling absolute alcohol. After cooling, elongated bars separate out which melt, after oozing, at 147° (70 mg) and whose melting point is no longer modified by re-crystallization in alcohol. The stock solution, after vacuum evaporation at ordinary temperature, leaves a residue melting at 160-210° which, through re-crystallization in boiling alcohol, in turn converts into a product having a melting point of 147°.

4.824 mg of substance yielded 8.735 mg CO₂ and 2.260 mg H₂O
0.1530 g of substance in 7.82 g CH₃COOH; Delta = 0.21° (cryoscopy)
C₁₆H₂₀O₁₁ Theoretical C 49.47 H 5.19% Mol. W. 388

Measured C 49.38 H 5.24% Mol. W. 363

We again obtain penta-acetate with a melting point of 147° by recrystallizing the isomer having a high melting point in acetic acid, in which it is quite soluble, or in acetic anhydride.

When treated with acetic anhydride or acid in the presence of concentrated sulfuric acid or anhydrous zinc chloride, the penta-acetate with a melting point of 147° regenerates its isomer melting at 211°. It was impossible for us to transform either one of the forms by inoculation with the crystals of the other form: the differences between the two compounds probably are not due to a dimorphism phenomenon.

In an alcohol solution, the two penta-acetates do not provide any coloring in the presence of iron chloride (III). In an acetic solution, either with or without sulfuric acid, the substances do not discolor either bromine water or permanganate.

Inosose Penta-Benzoates

50 mg of finely pulverized inosose are suspended in 0.3 cc of benzoyl chloride to which a small amount of melted zinc chloride has been added. It is heated in a test tube equipped with a calcium chloride tube, starting at 70° (temperature of the outside bath), then, as the release of hydrochloric gas tapers off, the temperature is gradually raised to 100°. After one hour of heating, the reaction is complete and the contents of the test tube forms a mass. It is diluted with a few volumes of alcohol. The crystalline powder is spun and washed with alcohol: 160 mg; melting point 220-243°. The substance thus obtained is poorly soluble in organic solvents; it dissolves best in boiling acetic acid and anhydride; it probably represents a mixture of the two forms described below.

Form with a melting point of 188°. This is obtained by

recrystallizing the product in acetic anhydride; already after the first re-crystallization, the melting point drops to 188° and then remains constant.

3.515 mg of substance yielded 9.070 mg CO₂ and 1.390 mg H₂O
C₄₁H₃₀O₁₁ Theoretical C 70.47 H 4.33%
 Measured C 70.37 H 4.43%

Form with a melting point of 286°. This is prepared by dissolving the foregoing product under hot conditions in 600 parts of a mixture of 95 volumes of glacial acetic acid and 5 volumes of concentrated sulfuric acid. Through cooling, a crystalline powder formed of very small needles is separated out; they are spun and washed moderately with acetic acid. Melting point 286°. The stability of the product seems to be related to the presence of small quantities of mineral acid. Indeed, if we wash the product thoroughly so as to eliminate the final traces of sulfuric acid, the melting point drops considerably.

3.425 mg of substance yielded 8.825 mg CO₂ and 1.38 mg H₂O
C₄₁H₃₀O₁₁ Theoretical C 70.47 H 4.33%
 Measured C 70.27 H 4.51%

Preparation of derivatives of 1,2,3,5-tetra-oxy-benzene
from inosose derivatives.

1,2,3,5-tetra-acetoxy-benzene. A mixture of 7 parts acetic anhydride, 1 part anhydrous sodium acetate, and 1 part inosose penta-acetate (it does not matter whether the form melting at 211° or that melting at 147° is used) are heated for 3 minutes with reflux boiling. After cooling it is thrown into water; the precipitated product yields, through re-crystallization in alcohol, long, thin needles melting at 106-108° which have been identified as 1,2,3,5-tetra-acetoxy-benzene according to the melting point of their mixture with an authentic sample.

The same tetra-acetate is obtained if one of the forms of the inosose penta-acetate is treated for 12 hours under cold conditions with 5 parts of an equal volume mixture of anhydrous pyridine and acetic anhydride. Indeed, it is also obtained in a less pure state if the inosose is directly acetylated with the acetic anhydride in the presence of sodium acetate or anhydrous pyridine.

1-oxy-2,3,5-tribenzoyloxy-benzene. Here again, the same results are obtained, regardless of the form of the penta-acylated derivative used.

A mixture of 100 mg of inosose penta-benzoate and 100 mg of anhydrous sodium acetate is heated for 3 minutes to boiling in the presence of 0.6 cc of glacial acetic acid. It is poured into water after cooling; the precipitated product quickly hardens. After re-crystallization in alcohol, bright flakes are formed (60 mg) melting at 167-168°. A mixture with a sample of 1-oxy-2,3,5-tribenzoyl-oxy-benzene prepared from the inosose obtained by nitric oxidation melts at the same temperature.

Reduction of inosose by sodium amalgam.
Preparation of a cyclite probably identical to the scyllite.

0.5 g of inosose is dissolved in 30 cc of water; we first add 2.5 cc of normal acetic acid, then 2 g of 2.5% sodium amalgam and then agitate until the amalgam is completely destroyed. We then treat 4 more times with 2 cc of normal acetic acid and 2 g of sodium amalgam. The liquid must remain continually acidic per the litmus test; at the end of the operation it no longer reduces the Fehling solution. The solution is evaporated until dry in a vacuum; the residue is carefully dried in a vacuum at 100° and pulverized. 5 cc of acetic anhydride are added and reflux boiling is maintained for 20 minutes. After cooling, it is poured into water; after a few hours, the raw mixture of hexa-acetates (1.1 g) is spun, washed, dried, and pulverized; it is treated with 40 cc of boiling absolute alcohol. A portion remains insoluble (0.4 g); it is spun warm on a sintered glass filter. Through cooling, the solution deposits about 0.5 g of meso-inosite hexa-acetate; melting point (after re-crystallization in alcohol) 212°; a mixture with an authentic sample melts at the same temperature.

The 0.4 g not dissolved in the alcohol melts at 280-285°; through re-crystallization in acetic anhydride, the substance is prepared in very elongated rectangular bars. Melting point 285-286° (n. corr.; capillary tube); 298-299° (corr.; Maquenne block). The substance has extremely poor solubility in hot alcohol; it dissolves more easily in acid or better still in acetic anhydride. As explained in the theoretical portion, this compound is very likely identical to the scyllite hexa-acetate.

3.875; 3.925 mg of substance yielded 7.055; 7.155 mg CO₂ and 1.985-2.070 mg H₂O

C₁₈H₂₄O₁₂ Theoretical C 49.99 H 5.60%
 Measured C 49.65; 49.72 H 5.73; 5.90%

Cyclite (from hexa-acetate with a melting point of 299° corr.). 420 mg of finely pulverized hexa-acetylated derivative are suspended in 10 cc of boiling alcohol, then we add 10 cc of a 0.6-N barite solution in methyl alcohol and reflux boiling is maintained; the hexa-acetylated derivative dissolves and a baritic combination of the cyclite separates out. After one half hour we dilute with 20 cc of water, which causes most of the precipitate to be dissolved, and then we heat for another 15 minutes with reflux boiling. The liquid, once again diluted with 2 volumes of water, is freed of the barium ions by just enough sulfuric acid required; we then vacuum evaporate until dry. The residue is recrystallized in water. Melting point 352° (corr.; Maquenne block).

4.010 mg of substance yielded 5.880 mg CO₂ and 2.340 mg H₂O
C₆H₁₂O₆ Theoretical C 40.00 H 6.72%
 Measured C 39.99 H 6.53%

We observed two crystalline forms of the product:

a) an anhydrous form (that is separated hot); small bright prisms having a clinorhombic appearance;
b) a hydrated form obtained by slow cold crystallization; large transparent and efflorescent prisms.

When exposed to air at ordinary temperature, the crystals of form b) quickly lose their crystallization water and become opaque and collapse into powder. We tried to determine the crystallization water content of the product, which is difficult on account of its efflorescence. Crystals dried for a few hours at 4° lost 24.9%⁽¹⁰⁾ of their weight at 100° , which would indicate the presence of 3.5 aq. The product's solubility in water at 15° was found to be 1.3%. The density of the crystals of the anhydrous form determined at 24° using the liquid mixing method (ethylene-xylene bromide) was 1.656.

Catalytic Hydrogenation of Inosose

Hydrogenation in a neutral solution. 100 mg of inosose dissolved in 5 cc of water are hydrogenated at ordinary pressure and temperature in the presence of 40 mg of platinum oxide. After one and a half hours, the hydrogenation is complete; 1.05 moles of hydrogen are consumed (after deduction of the quantity needed to reduce the platinum oxide). The liquid, which no longer reduces the Fehling solution, is vacuum evaporated until dry; it leaves a residue melting for the most part around 210° consisting essentially of meso-inosite accompanied by a little cyclite that we consider to be identical to scyllite. Purification was done by means of acetylated derivatives obtained by 5 minutes of boiling in the presence of acetic anhydride and zinc chloride. The acetylated product (200 mg) is treated with 8 cc of boiling alcohol; a portion (10 mg) remaining insoluble is spun hot; after re-crystallization in acetic anhydride, it melts at 286° n. corr. and is identical (melting point of the mixture) to the acetylated derivative of the product obtained by reduction of inosose using a sodium amalgam. The acetylated derivative soluble in hot alcohol crystallizes by cooling into sheets (rhombs) melting at 212° . It was identified by the melting point of its mixture with an authentic sample as meso-inosite hexa-acetate.

Hydrogenation in sulfuric solution. Preparation of a deoxy-inosite. 100 mg of inosose are dissolved in 5 cc of a mixture of 95 volumes of water and 5 volumes of concentrated sulfuric acid. It is hydrogenated in the presence of 40 mg of platinum oxide; the reaction is finished in one hour after consuming 2.2 moles of hydrogen. The sulfuric acid is eliminated with just the quantity of barite needed. The liquid, after vacuum evaporation until dry, leaves a crystallized residue of deoxy-inosite melting at $225-230^{\circ}$; its mixture with a sample of meso-inosite (melting point 223°) melts at 205° . The deoxy-inosite was purified by means of its

¹⁰⁾ Goodson (loc. cit.) indicates exactly the same water content for the hydrated form of scyllite.

penta-acetylated derivative; this derivative obtained by boiling in the presence of acetic anhydride and zinc chloride is easily recrystallized in alcohol. Very elongated rhombs melting at 190°.

3.855 mg of substance yielded 7.255 mg CO₂ and 2.010 mg H₂O
C₁₆H₂₂O₁₀ Theoretical C 51.33 H 5.93%
 Measured C 51.33 H 5.83%

80 mg of deoxy-inosite penta-acetate are dissolved hot in 3 cc of absolute alcohol; we add 2.5 cc of a 0.5-N solution of barite in methyl alcohol. A precipitate immediately forms, which redissolves for the most part after the addition of 10 cc of water. We heat again for 15 minutes at 80°. After elimination of the barite using just the quantity of sulfuric acid required, the liquid is evaporated until dry and leaves a residue that is crystallized by dissolving in a small amount of water followed by the addition of alcohol until it turns cloudy. Elongated oblique prisms. Melting point 233-235° (after oozing).

2.465 mg of substance yielded 3.980 mg CO₂ and 1.620 mg H₂O
C₆H₁₂O₅ Theoretical C 43.90 H 7.37%
 Measured C 44.03 H 7.35%

Catalytic hydrogenation of inosose penta-acetates

In the presence of sulfuric acid. 100 mg of inosose penta-acetate (either the form melting at 211° or that melting at 147° can be used indifferently) are dissolved in 3 cc of a mixture of 95 volumes of glacial acetic acid and 5 volumes of concentrated sulfuric acid. We introduce 50 mg of platinum oxide and agitate in a hydrogen atmosphere at ordinary temperature and pressure. The reaction is finished after one hour after consuming 2.1 moles of hydrogen. The filtered acetic solution is diluted with water to 25 cc. It is left in the cooler; 25 mg of deoxy-inosite penta-acetate are slowly separated out which, after re-crystallization in alcohol, melt alone or mixed with the product described previously at 188-190°. The stock solution, stripped of its sulfuric acid by just the quantity of barite necessary, is vacuum evaporated. The residue, for the most part syrupy, is re-acetylated with acetic anhydride in the presence of zinc chloride. We thus obtain, after re-crystallization in alcohol, another 5 mg of deoxy-inosite penta-acetate (melting point 190°); this is accompanied by a small quantity of a product insoluble in boiling alcohol consisting of scyllite hexa-acetate (melting point 286° n. corr. after re-crystallization in acetic anhydride).

In the absence of sulfuric acid; meso-inosite penta-acetate. 40 mg of inosose penta-acetate (form melting at 211° or form melting at 147°) are hydrogenated in 6 cc of acetic acid in the presence of 40 mg of platinum oxide. 1.1 moles of hydrogen are consumed. After filtering, the solution is vacuum evaporated until dry; the residue is redissolved in a small amount of cold alcohol and quickly crystallizes (20 mg). Through re-crystallization in

alcohol (1 cc), first long, thin needles separate out, then indistinct crystals. The needles (80 mg) melt after recrystallization at 161-162° and have the composition of a meso-inosite penta-acetate.

3.562 mg of substance yielded 6.455 mg CO₂ and 1.84 mg H₂O
C₁₆H₂₂O₁₁ Theoretical C 49.22 H 5.69%
 Measured C 49.42 H 5.78%

When acetylated with acetic anhydride in the presence of zinc chloride, the product changes into meso-inosite hexa-acetate melting at 212°, as does its mixture with an authentic sample.

The products coming from the stock solution of inosite penta-acetate represent a mixture that is difficult to separate. After acetylation, it was possible to separate some scyllite penta-acetate thanks to its poor solubility in alcohol. This scyllite penta-acetate is accompanied by a small quantity of deoxy-inosite penta-acetate (melting point 190°).

Geneva, University Laboratories
of Organic and Inorganic Chemistry.